






5-Aminolevulinic acid formulation dissolved/dispersed in non-aqueous solvents

Patent number: DE10003620
Publication date: 2001-08-02
Inventor:
Applicant: ASAT AG APPLIED SCIENCE & TECH (CH)
Classification:
- international: C07C229/22; C07C227/44; A61K49/00; A61N5/00; A61M31/00; A61M35/00; A61K31/195
- european: A61K31/197; A61K41/00W4; A61K47/10
Application number: DE20001003620 20000128
Priority number(s): DE20001003620 20000128

Also published as:

 WO0155092 (A3)
 WO0155092 (A3)
 WO0155092 (A2)
 US2003125388 (A)
 CA2399405 (A1)

[Report a data error here](#)

Abstract of DE10003620

The invention relates to compositions that contain 5-aminolevulinic acid and/or the derivatives thereof dissolved or dispersed in a non-aqueous liquid. The invention further relates to a two-chamber system that contains compositions of the 5-aminolevulinic acid and/or the derivatives thereof in which the active substances are stored in a non-aqueous phase and which are ready for use once mixed with an aqueous phase.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND

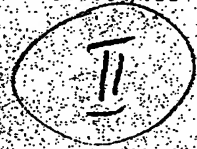


DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 100 03 620 A 1

21 Aktenzeichen: 100 03 620:1
22 Anmeldetag: 28. 1. 2000
43 Offenlegungstag: 2. 8. 2001

51 Int. Cl. 7
C 07 C 229/22
C 07 C 227/44
A 61 K 49/00
A 61 N 5/00
A 61 M 31/00
A 61 M 35/00
A 61 K 31/195



DE 100 03 620 A 1

71 Anmelder:
ASAT AG Applied Science & Technology, Zug, CH

74 Vertreter:
Weickmann & Weickmann, 81679 München

72 Erfinder:
Erfinder wird später genannt werden

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen.

- 54 5-Aminolävulininsäure-Formulierung in nichtwässrigen Lösungsmitteln
57 Die Erfindung betrifft Zusammensetzung, die 5-Amino-
lävulininsäure oder/und Derivate gelöst oder dispergiert in
einer nichtwässrigen Flüssigkeit enthalten.

DE 100 03 620 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft Zusammensetzungen, die 5-Aminolävulinsäure oder/und Derivate davon gelöst oder dispergiert in einer nichtwässrigen Flüssigkeit enthalten.

Die photodynamische Therapie ist eine neue und vielversprechende Methode zur Behandlung von verschiedenen prämaligen und malignen Erkrankungen, die mit der Zellproliferation im Zusammenhang stehen. Das Prinzip der photodynamischen Therapie beruht darauf, einen sog. Photosensibilisator in das Tumorgewebe einzubringen und diesen durch Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge in einem cytotoxisch aktiven Wirkstoff umzuwandeln, welcher letztlich die Zerstörung der Zellen bewirkt. Die Selektivität dieser Methode beruht in einer stärkeren Anreicherung des Sensibilisators in schnell proliferierenden Tumorzellen im Vergleich zum Normalgewebe. Durch eine lokal begrenzte Lichtbestrahlung kann der in den Tumorzellen enthaltene Sensibilisator gezielt aktiviert werden, wodurch die Krebszellen unter weitgehender Schonung des gesunden Gewebes zerstört werden.

Bisher wurde als Photosensibilisator zumeist ein intravenös verabreichbares Gemisch von Haematoporphyrinderivaten verwendet. Trotz ermutigender klinischer Erfolge bei unterschiedlichen Krebsarten weisen diese Haematoporphyrinderivate jedoch verschiedene Nachteile auf. Erstens treten infolge der geringen Tumorselektivität und der nur langsamen Elimination aus dem Körper relativ hohe Wirkstoffkonzentrationen im Normalgewebe auf. Demzufolge finden bei der Bestrahlung unerwünschte photochemische Reaktionen im gesunden Gewebe statt. Zweitens resultiert diese Behandlung in einer allgemeinen Lichtempfindlichkeit, so daß sich der Patient während etwa vier Wochen nicht dem Tageslicht aussetzen darf.

Eine Verringerung der hohen Wirkstoffkonzentration im Normalgewebe und somit der unerwünschten Nebenwirkungen kann in bestimmten Fällen, insbesondere bei dermatologischen und gynäkologischen Anwendungen durch die Entwicklung topisch applizierbarer Wirkstoffformulierungen anstelle der bekannten systemischen Formulierungen erreicht werden. Zur Verringerung der Lichtempfindlichkeit wird weiterhin versucht, Precursoren von Photosensibilisatoren einzusetzen, die photochemisch inaktiv sind und erst innerhalb der Zielzelle in einen Photosensibilisator umgewandelt werden.

5-Aminolävulinsäure ist eine körpereigene Substanz, die aus Glycin und Succinyl-CoA synthetisiert wird. Im Rahmen der Haem-Biosynthese entsteht aus 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) in mehreren schnell verlaufenden Reaktionsschritten das hochgradig photoaktive Protoporphyrin IX, das anschließend in einer langsamen Reaktion zur Haem umgewandelt wird. Ein natürlicher Regelmechanismus hemmt bei zu hoher Haemkonzentration sowohl die körpereigene Synthese von 5-ALA als auch den Abbau von Protoporphyrin IX.

Durch die exogene Verabreichung von synthetisch hergestellter 5-ALA wird dieser Regelmechanismus umgangen, was zu einer erhöhten Produktion von Protoporphyrin IX führt. Da dessen Abbau durch den natürlichen Kontrollmechanismus weiterhin gehemmt ist, reichert sich das Protoporphyrin IX in den Zellen an. Protoporphyrin IX kann bei Bestrahlung mit Licht eine photochemische Oxidationsreaktion eingehen und wirkt somit als Photosensibilisator. Bei Absorption eines Lichtquants durch das Sensibilisatormolekül wird dieses zunächst in einen elektronisch angeregten Zustand (Singulettzustand) versetzt, welcher relativ kurzlebig ist und seine Überschussenergie entweder innerhalb einer Nanosekunden durch Emission eines Fluoreszenzphotons

wieder abgibt oder in einen relativ langlebigen Triplettzustand übergeht. Aus diesem Triplettzustand kann Energie auf in der Zelle vorhandene Sauerstoffmoleküle übertragen werden. Der dabei entstehende Singulett-Sauerstoff wirkt cytotoxisch, insbesondere auf proliferierende Zellen, da er mit Zellkomponenten, z. B. der Zellmembran und Mitochondrien, reagiert oder die Bildung von zellschädigenden Radikalen auslöst. Weiterhin führt die Bestrahlung des Photosensibilisators zu einer charakteristischen Fluoreszenzstrahlung, welche für Nachweisreaktionen, beispielsweise zum Nachweis proliferierender Zellen, verwendet werden kann.

Bei 5-ALA handelt es sich um eine chemisch äußerst instabile Substanz, die einem breiten Spektrum von Zersetzungsreaktionen unterliegt (siehe z. B. Granick und Mauzerall, J. Biol. Chem. 232 (1958), 1119-1140; Franck und Strafmann, Heterocycles 15 (1991), 919-323; Jaffe und Rajagopalan, Bioorg. Chem. 18 (1990), 381-394; Butler und George, Tetrahedron 48 (1992), 7879-7886; Novo et al., J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 34 (1996), 143-148; Scott, Biochem. J. 62 (1955), 6 P; Dalton et al. Pharm. Res. 16 (1999), 288-295). Diese Zersetzungsreaktionen sind schematisch in Abb. 1 dargestellt. Als α -Aminoketon bildet 5-ALA eine dimere Schiff'sche Base (DHPY), die leicht zur aromatischen Verbindung PY oxidiert wird. Als Nebenreaktionen können die Umsetzungen zu Porphobilinogen bzw. Pseudoporphobilinogen auftreten. Der erste Reaktionsschritt aller Abbaustufen, die Bildung der Schiff'schen Base über die in Abb. 1 dargestellten instabilen Zwischenstufen, ist ein stark pH-abhängiges Gleichgewicht, wobei höhere pH-Werte von z. B. oberhalb pH 5 die 5-ALA-Zersetzung beschleunigen. Als hinreichend stabil erweist sich lediglich eine saure wässrige Lösung von 5-ALA HCl. Die pH-Wert-Optimierung eignet sich jedoch nicht als Mittel zur Stabilisierung von 5-ALA als Arzneimittel, da ein stark saures Medium nicht therapeutisch eingesetzt werden kann.

Neben der Instabilität von 5-ALA stellt ihr ausgeprägter ionischer Charakter ein Problem bezüglich der Bioverfügbarkeit dar. 5-ALA liegt im physiologisch tolerierbaren pH-Bereich (pH 5 bis 8) als Zwitterion vor, d. h. mit dissoziierter Carboxylgruppe und mit protonierter Aminogruppe. Bekanntermaßen sind derart geladene Substanzen schlecht membrangängig, d. h. sie werden nur in geringem Ausmaß durch Epithelien und durch Zellmembranen transportiert. Damit ist die Bioverfügbarkeit gering. Dies erklärt auch die Tatsache, daß 5-ALA in den bisherigen klinischen Anwendungen in sehr hohen Dosen eingesetzt werden mußte.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es somit, 5-ALA enthaltende Zusammensetzungen bereitzustellen, bei denen die aus dem Stand der Technik bekannten Nachteile zumindest teilweise beseitigt sind und die insbesondere eine verbesserte chemische Stabilität und eine bessere Membrangängigkeit besitzen.

Gelöst wird diese Aufgabe durch Einbringen von 5-ALA oder/und Derivaten, davon in nichtwässrige Flüssigkeiten mit einer Dielektrizitätskonstante $\epsilon < 80$ bei 25°C, wobei diese Flüssigkeiten vorzugsweise physiologisch verträglich und mit Wasser mischbar sind. Beispiele solcher Flüssigkeiten sind 1,2-Propylenglykol und Glycerin.

Ein Gegenstand der Erfindung ist somit eine Zusammensetzung, die eine Wirksubstanz ausgewählt aus 5-ALA oder/und einem Derivat davon gelöst oder dispergiert in einer nichtwässrigen Flüssigkeit enthält, die eine Dielektrizitätskonstante ϵ von weniger als 80 bei 25°C aufweist.

Erfindungsgemäß umfaßt die Zusammensetzung eine Wirksubstanz ausgewählt aus 5-Aminolävulinsäure oder/und einem Derivat davon. Unter "Derivat" sind insbesondere Salze, Ester, Komplexe und Additionsverbindungen zu

verstehen. Besonders bevorzugt ist die Wirksubstanz 5-Aminolavulinsäure oder ein Salz oder Ester davon. Bevorzugte Beispiele für Salze und Ester sind 5-ALA-Hydrochlorid, Sulfat, Nitrat, Phosphat, Borat, Tannat, Lactat, Glycolat, Succinat, Citrat, Tartrat, Emmonat, bzw. 5-ALA-Methylat, -Äthylat, Propionat, Butyrat, Hexanoat, Octanoat, Dodecanoat, Myristat, Palmitat, -Oleat.

Aufgrund der Lösung bzw. Dispergierung in nichtwässrigen Flüssigkeiten liegt die Wirksubstanz 5-ALA vorzugsweise zumindest teilweise in einer Enolform vor, die in Gegenwart Wasser weniger polaren Flüssigkeiten verstärkt gebildet wird. Das Vorhandensein der Enolform führt zu einer Gelbfärbung der Zusammensetzung, die jedoch nicht auf eine Zersetzung 5-ALA zu einem der in Abb. 1 gezeigten Abbauprodukte zurückzuführen ist. Die Bildung der Enolform bewirkt eine Stabilisierung von 5-ALA, durch welche die Entstehung der Schiff'schen Base gemäß Abb. 1 und in Folge dessen auch die Reaktion zu weiteren Abbauprodukten verzögert werden kann. Zudem wird die verglichen mit der Ketoform weniger polare Enolform der 5-ALA besser durch physiologische Membranen aufgenommen. Somit kann neben der chemischen Stabilisierung auch eine verbesserte Bioverfügbarkeit erzielt werden.

Bevorzugte Beispiele für nichtwässrige Flüssigkeiten, die zur Lösung bzw. Dispergierung des Wirkstoffes eingesetzt werden, sind pharmazeutisch verträgliche Lösungsmittel wie Alkohole, z. B. höhere Alkohole, wie etwa C₁-C₂₀-Alkohole, Ether und Ester, mehrwertige, z. B. zwei- oder dreiwertige Alkohole und deren Ester, z. B. Glycerin und dessen Mono-, Di- und Triester mit C₁-C₂₀-Carbonsäuren, 1,2-Propylenglykol, 1,3-Propylenglykol und deren Mono- und Diester mit C₁-C₂₀-Carbonsäuren, Poly(alkylenoxide), insbesondere Poly(ethylen- oder/und propylenoxide) mit bis zu 1000 Alkyleneinheiten und deren Ester, Phospholipide, Ester höherer Carbonsäuren, Sulfoxide wie etwa Dimethylsulfoxid (DMSO), N-Vinylpyrrolidon und N,N-Dimethylacetamid. Ebenso geeignet sind Mischungen von zwei oder mehreren der genannten Substanzen.

Weiterhin kann die Zusammensetzung Substanzen enthalten, die zur Verfestigung der Formulierung von 5-ALA, z. B. als Salz oder in Form von Estern bei geringer Temperatur, z. B. Kühl- oder Körpertemperaturen, dienen, welche sich bei Raum- bzw. Körpertemperatur wieder verflüssigen und somit zu einer weiteren Erhöhung der Lagerstabilität von 5-ALA beitragen können. Beispiele für solche Substanzen mit temperaturabhängigem Fest-Flüssig-Verhalten sind Pflanzenöle wie Baumwollsaamenöl, Erdnußöl, Sesamöl, Tenside wie Cremophor® EL, PEG 400-Monostearat, PEG 600-Monostearat, Polysorbat (Tween 61) und Lösungsvermittler wie Solutol® HS15, Isopropylmyristat und -palmitat. Diese Substanzen sind als solche größtenteils keine guten Lösungsmittel für 5-ALA, können jedoch in Kombination mit anderen der genannten Substanzen, z. B. Glycerin oder Propylenglykol, die 5-ALA bzw. deren Derivate jedoch in Lösung halten, und darüber hinaus der Zusammensetzung die Eigenschaft vermitteln, sich bei geringer Temperatur zu verfestigen und sich bei Umgebungstemperatur wieder zu verflüssigen.

Die Zusammensetzung kann darüber hinaus gegebenenfalls zusätzlich Wasser oder eine wässrige Lösung, vorzugsweise in geringen Mengen von maximal bis zu 50 Gew.-%, besonders bevorzugt von maximal bis zu 25 Gew.-% bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung enthalten. Die Zugabe von Wasser erfolgt vorzugsweise erst unmittelbar vor der beabsichtigten Anwendung der Zusammensetzung.

Der Anteil der Wirksubstanz, z. B. 5-ALA, in der Zusammensetzung hängt im wesentlichen von dem vorgesehenen

Anwendungszweck ab. Im allgemeinen sind etwa 1 bis 25 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, vorhanden. Höhere bzw. niedrigere Dosierungen sind jedoch machbar. Für Anwendungen im Zusammenhang mit photodynamischer Therapie hat sich ein Anteil von 1 bis 15 Gew.-%, insbesondere von etwa 2 bis 10 Gew.-% als geeignet erwiesen.

Die Zusammensetzung kann weiterhin Hilfs- oder/und Zusatzstoffe umfassen und insbesondere solche Stoffe, welche in der Kosmetik oder Pharmazie üblich sind. Beispiele für derartige Substanzen sind etwa Puffer, Stabilisatoren, zusätzliche Emulgatoren, Verdickungsmittel, etc.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine erfindungsgemäße Zusammensetzung in Form eines pharmazeutischen Präparats. In diesem Fall ist die Zusammensetzung frei von Bestandteilen, die pharmazeutisch nicht akzeptabel sind und bevorzugt frei von Bestandteilen, welche beispielsweise Irritationen hervorrufen. Das pharmazeutische Präparat kann neben den bereits genannten Trägersubstanzen weitere Hilfs- oder/und Zusatzstoffe enthalten, die akzeptabel und bevorzugt gut verträglich sind.

Die Zusammensetzung kann als Lösung, Suspension, Emulsion, Mikroemulsion, Gel, Salbe, Spray, Schaum, Suppositorium oder Ovulum vorliegen.

Das pharmazeutische Präparat kann in einer Form vorliegen, die für eine systemische Verabreichung geeignet ist, wie beispielsweise eine unizierbare Flüssigkeit. Für dermatologische und gynäkologische Anwendungen liegt das Präparat jedoch bevorzugt in einer Form vor, die für eine topische Applikation geeignet ist. Das Präparat weist für die jeweils gewünschte Applikationsform günstige Eigenschaften, z. B. geeignete Viskosität, rheologische Eigenschaften, Benetzungs- und Penetrationsvermögen auf, um zu gewährleisten, daß nach der Applikation ein ausreichendes Eindringen in das Zielgewebe erfolgt. Diese genannten Eigenschaften können durch Zugabe von Verdickungs- und Benetzungsmitteln sowie Penetrationsförderern wie beispielsweise Polyethylenglykolstearylthern, Polyethylenglykolstearat, Polysacchariden wie etwa Polysaccharid B-1459, Softisan® 378, Clofibrinsäure, 2-Pyrrolidon, Acetylcystein oder/und Carbocystein eingestellt werden.

Neben 5-ALA oder Derivaten davon kann die Zusammensetzung auch weitere Arzneistoffe enthalten, die beispielsweise aus Lokalanästhetika, Antibiotika, Proteoglykanen, Steroidalen und nichtsteroidalen Entzündungshemmern, Wachstumshormonen, Cytokinen wie etwa TNF- α , Sexualhormonen oder Vitaminen ausgewählt sein können.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung bzw. des pharmazeutischen Präparats wird die Wirksubstanz in der nichtwässrigen Flüssigkeit gelöst oder dispergiert. Gegebenenfalls vorhandene Zusatzstoffe können vor, während oder/und nach dem Lösen bzw. Dispergieren zugesetzt werden.

Bevorzugt wird das Verfahren unter Luftausschluß durchgeführt, beispielsweise mittels Anlegen eines Vakuums oder/und einer Schutzgasatmosphäre. Außerdem ist es bevorzugt, unter Lichtausschluß zu arbeiten. Das Verfahren wird bei einer Temperatur durchgeführt, bei der die Ausbildung der gewünschten Zusammensetzung stattfinden kann und eine ausreichende Stabilität der Bestandteile, insbesondere der Wirksubstanz gegeben ist. Im allgemeinen hat sich ein Temperaturbereich von etwa 5 bis 45°C als geeignet herausgestellt. Für eine pharmazeutische Anwendung wird für eine Sterilität des entstehenden Produkts gesorgt, z. B. durch Einsatz steriler Ausgangsmaterialien und Einhaltung steriler Verfahrensbedingungen oder/und durch einen Sterilisationsschritt nach der Herstellung.

Ein wesentliches Verwendungsgelände für die erfindungs-

gemäßen Zusammensetzungen liegt auf dem Gebiet der photodynamischen Therapie, wobei die Zusammensetzung besonders bevorzugt topisch appliziert wird. Der Einsatz der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist weiterhin möglich bei sämtlichen Erkrankungen, deren Bekämpfung eine Proliferationshemmung oder eine Abtötung von Zellen oder Gewebe mittels Photoaktivierung eines aus 5-ALA gebildeten Sensibilisators umfaßt. Hierzu zählen insbesondere Erkrankungen, die mit einer gesteigerten Zellproliferation assoziiert sind, da in diesem Fall eine besonders hohe Anreicherung des Photosensibilisators durch den gesteigerten Zellmetabolismus in erkrankten Zellen stattfindet.

Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen sind demnach geeignet zur Behandlung von Tumorerkrankungen, wie beispielsweise Basalzellkarzinome, Plattenepithelkarzinome, Morbus Bowen, aktinische Keratose, Condylomata acuminata (CIN), epitheliale Neoplasie der Vulva (VIN), knotenartige und subkutane Krebserkrankungen. Ein Beispiel für eine nichtmaligne Erkrankung ist etwa Psoriasis.

Die Behandlung erfolgt z. B. durch topische Applikation einer die Wirksubstanz, z. B. 5-ALA, enthaltenden Zusammensetzung und anschließende Inkubation, um das Eindringen einer ausreichenden Menge der 5-ALA in das zu behandelnde Gewebe zu gestatten. Während der Inkubation wird eine Lichtemission auf die behandelte Stelle bevorzugterweise z. B. durch Abdecken vermieden, um eine unerwünschte vorzeitige Aktivierung zu verhindern. Nach Ablauf des Inkubationszeitraumes, der im Allgemeinen etwa 1 bis 8 h, und üblicherweise etwa 4 h beträgt, wird das Gewebe mit einer Lichtquelle in einer ausreichenden Strahlungsdosis bestrahlt. Geeignete Lichtquellen umfassen Lampen, welche weißes Licht abgeben, sowie monochromatische Lichtquellen, wie etwa einen Laser, insbesondere Argon-Farbstofflaser mit einer Emission bei etwa 630 nm. Die Strahlungsdosen liegen üblicherweise in einem Bereich von etwa 20 J/cm² bis mehrere 100 J/cm² pro Anwendung.

Ein weiteres Verwendungsgebiet für die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen betrifft den Nachweis des Vorhandenseins von proliferierenden Zellen in einer Probe, z. B. einer Gewebeprobe. Der Nachweis beruht auf einer selektiven Anreicherung eines durch Metabolisierung der Wirksubstanz erzeugten Photosensibilisators in den proliferierenden Zellen, verglichen mit normalen Zellen. Vorzugsweise ist die Wirksubstanz 5-ALA und der Photosensibilisator Porphyrin IX. Die Anreicherung des Photosensibilisators kann durch photodiagnostische Verfahren bestimmt werden, z. B. durch Bestrahlen mit Licht mit 405 nm Wellenlänge und Messen der durch den Photosensibilisator erzeugten Fluoreszenzstrahlung. Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen sind insbesondere zur Verwendung in der Tumordiagnostik geeignet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung zur Herstellung eines Medikaments für die photodynamische Therapie.

Schließlich betrifft die Erfindung einen Kit, welcher eine erfindungsgemäße, zur topischen Applikation oder zur Applikation in Körperhöhlen geeignete Zusammensetzung sowie eines oder mehrere Hilfsmittel enthält. Solche Hilfsmittel sind beispielsweise ein Abdeckmaterial, wie etwa eine Plastikfolie, das z. B. bei topischer Applikation, nicht jedoch bei Applikation in Körperhöhlen, nach dem Aufbringen der Zusammensetzung auf die zu behandelnde Stelle aufgebracht wird, um eine vorzeitige Aktivierung durch Licht zu verhindern, Mittel zur Befestigung des Abdeckmaterials oder auch Mittel zum Auftragen der Zusammensetzung auf die zu behandelnde Stelle.

Die nachfolgenden Abbildungen und Beispiele sollen die Erfindung weiterhin erläutern.

Es zeigen

Abb. 1 Eine schematische Darstellung von Zersetzungsreaktionen, denen 5-Aminolävulinäure (5-ALA) unterliegt.

Abb. 2 Die zeitabhängige Veränderung des UV-VIS-Spektrums einer 10%igen 5-ALA-Lösung in wasserfreiem Glycerin (unverdünnt und nach Verdünnen mit Wasser im Verhältnis 1 : 1 in Intervallen von 0,2 min aufgenommen).

Beispiele

1. Herstellung nichtwässriger 5-ALA-Zusammensetzungen

Es wurden 10%ige Lösungen (Gew./Vol) von 5-ALA in 1,2-Propylenglykol und Glycerin hergestellt. Nach vollständiger Lösung wurde eine Gelbfärbung gefunden, die jedoch nicht auf eine Zersetzung von 5-ALA zu einem der in Abb. 1 aufgeführten Abbauprodukte zurückzuführen ist. So konnten bei Kapillarelektrophorese weder DHPY, PY noch Porphobilinogen nachgewiesen werden.

Die Verfärbung der Lösung war demzufolge auf die Ausbildung der Enolform von 5-ALA zurückzuführen. Dies wurde durch UV-VIS-Messungen bestätigt. Sowohl in Glycerin als auch in 1,2-Propylenglykol wurde eine Absorptionsbande bei 447 nm gefunden, welche die Ursache der optisch erkennbaren Gelbfärbung war. Diese spektrale Verschiebung ist durch Enolisierung von 5-ALA bedingt, die bereits in wässrigen alkalischen Lösungen beobachtet wurde (Monteiro et al., Arch. Biochem. Biophys. 271 (1989), 206-217).

Wird der 10%igen wasserfreien 5-ALA-Lösung Wasser im Verhältnis 1 : 1 zugesetzt, beobachtete man ein Verschwinden der Gelbfärbung der Lösung innerhalb weniger Minuten. Dies ließ sich durch Messung der Abnahme der Extinktion bei 447 nm erfassen (Abb. 2). In einer anschließend 1 : 100 mit Wasser verdünnten Lösung wurde ein UV-Spektrum von 5-ALA ohne Vorhandensein von Nebenprodukten beobachtet.

Patentansprüche

1. Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Wirksubstanz ausgewählt aus 5-Aminolävulinäure (5-ALA) oder/und einem Derivat davon gelöst oder dispergiert in einer nichtwässrigen Flüssigkeit enthält, die eine Dielektrizitätskonstante ϵ von weniger als 80 bei 25°C enthält.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Derivate aus Salzen und Estern von 5-ALA ausgewählt sind.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Wirksubstanz zumindest teilweise in der Enolform vorliegt.
4. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die nichtwässrige Flüssigkeit ausgewählt ist aus Alkoholen, Ethern, Estern, Poly(alkylenglykolen), Phospholipiden, DMSO, N-Vinylpyrrolidon, N-N-Dimethylacetamid und Gemischen davon.
5. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die nichtwässrige Flüssigkeit zumindest teilweise mit Wasser mischbar ist.
6. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich Wasser enthält.
7. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden

Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Wirksubstanz in einem Anteil von 1 bis 25 Gew.-%, insbesondere von 1 bis 15 Gew.-% bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung vorhanden ist.

8. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie weiterhin Hilfs- oder/und Zusatzstoffe umfaßt, die in der Kosmetik oder Pharmazie üblich sind.

9. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie als Lösung, Suspension, Emulsion, Mikroemulsion, Gel, Salbe, Spray, Schaum, Suppositorium oder Ovolum vorliegt.

10. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Form eines pharmazeutischen Präparats ist.

11. Zusammensetzung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß sie topisch applizierbar ist.

12. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen weiteren Arzneistoff enthält.

13. Verwendung einer eine Wirksubstanz ausgewählt aus 5-ALA, oder einem Derivat davon enthaltenden Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Therapie oder Diagnostik von mit Zellproliferation assoziierten Erkrankungen.

14. Verwendung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Zusammensetzung topisch appliziert wird.

15. Verwendung nach Anspruch 13 oder 14 bei der Therapie oder Diagnostik von Tumorerkrankungen.

16. Verwendung nach einem der Ansprüche 13 bis 15 bei einer photodynamischen Therapie.

17. Verwendung nach Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Erkrankung ein Basalzellkarzinom, ein Plattenepithelkarzinom, Morbus Bowen, aktinische Keratose, Condylomata acuminata (CIN), intraepitheliale Neoplasie der Vulva (VIN) oder eine knotenartige oder subkutane Krebserkrankung ist.

18. Verwendung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Erkrankung Psoriasis ist.

19. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Diagnostikums oder Medikaments für die photodynamische Therapie.

20. Kit, umfassend eine topisch applizierbare Zusammensetzung nach Anspruch 11 und mindestens eine Komponente, ausgewählt aus

- (a) einem im wesentlichen lichtundurchlässigen, blattartigen Material,
- (b) Mittel zur Befestigung des blattartigen Materials auf einem Applikationsort, und
- (c) Mittel zum Auftragen der Zusammensetzung auf einem Applikationsort.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen.

Abbildung 1

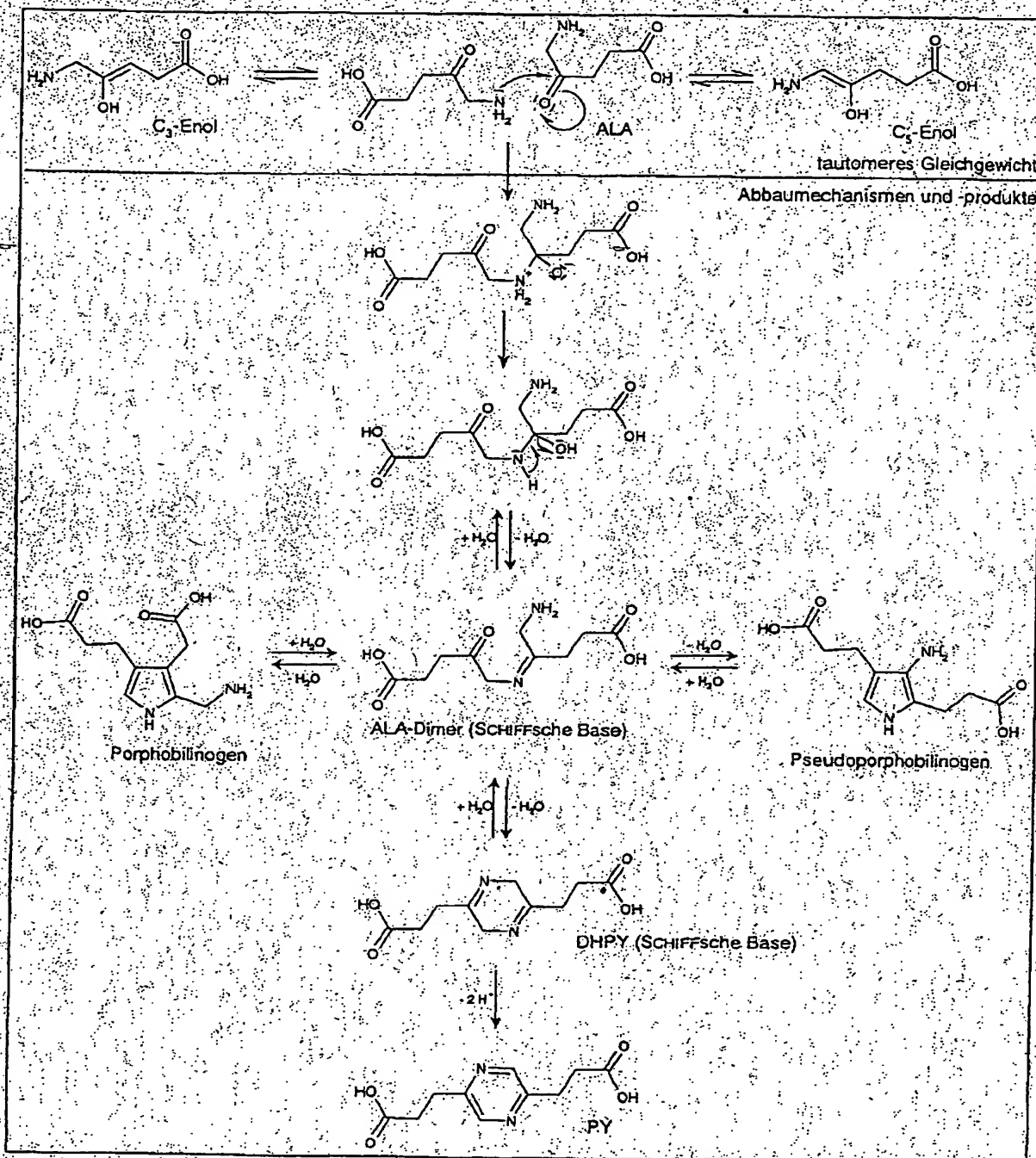
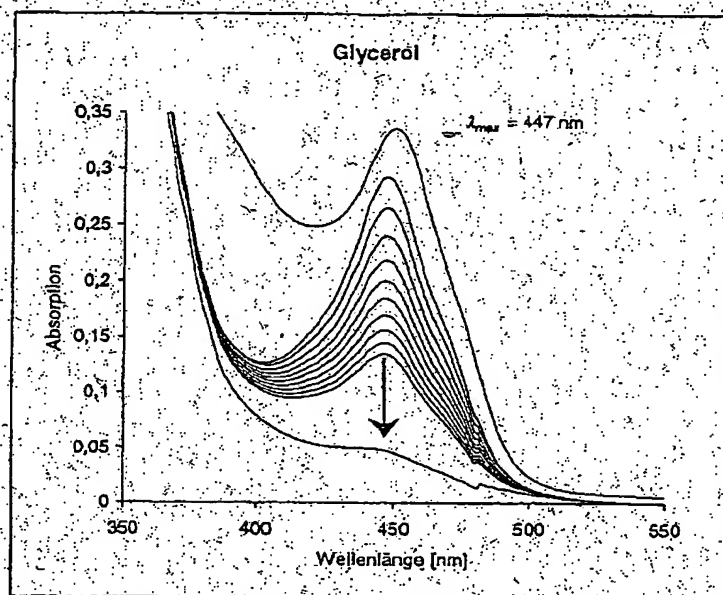


Abbildung 2



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.